



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultade de Ciencias

Grado en Bioloxía

Memoria de Trabajo de Fin de Grado

“Procesos bioquímicos de las levaduras implicadas en la elaboración de cerveza”

“Procesos bioquímicos dos fermentos implicados na elaboración de cervexa”

“Biochemical processes of yeast involved in brewing”

Ilda Andersson Quintana-Lacaci

Curso: 2020 - 2021. Convocatoria: Marzo

Directora académica: Ana María Rodríguez Torres

ANA MARÍA RODRÍGUEZ TORRES, PROFESORA TITULAR DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, EN LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDADE DA CORUÑA,

INFORMA:

QUE EL PRESENTE TRABAJO FIN DE GRADO PRESENTADO POR LA ALUMNA **ILDA ANDERSSON QUINTANA-LACACI** TITULADO:

“Procesos bioquímicos de las levaduras implicadas en la elaboración de cerveza”

“Procesos bioquímicos dos fermentos implicados na elaboración de cervexa”

“Biochemical processes of yeast involved in brewing”

Ha sido realizado bajo mi dirección y autorizo su presentación y defensa para que pueda ser juzgado por el tribunal correspondiente.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo la presente en,

A Coruña a 23 de Febrero de 2021.

Ana María Rodríguez Torres.

ÍNDICE

RESUMEN	4
RESUMO	4
ABSTRACT	4
ABREVIATURAS	5
1 INTRODUCCIÓN	6
2 OBJETIVOS.....	8
3 MATERIALES Y MÉTODOS	8
4 RESULTADOS	9
4.1 Ingredientes de la cerveza y sus componentes	9
4.1.1 El agua.....	9
4.1.2 El lúpulo	10
4.1.3 La malta	11
4.1.4 Las levaduras.....	12
TIPOS DE LEVADURAS	14
<i>S. cerevisiae</i>	14
<i>S. pastorianus</i>	14
Levaduras Kveik	15
<i>Brettanomyces spp</i> :	15
4.2 Elaboración de la cerveza	16
4.2.1 Procesos físicos.....	16
Molienda	16
Maceración y cocción	17
Fermentación.....	17
Maduración o segunda fermentación.....	17
Embotellado y carbonatación	17
4.2.2 Procesos bioquímicos.....	18
Macerado y cocción.....	18
Fermentación.....	20
Propiedades organolépticas y análisis sensorial:	22
5 CONCLUSIONES	25
6 BIBLIOGRAFÍA	26

RESUMEN

La cerveza es una de las bebidas alcohólicas más antiguas y populares del mundo. Su elaboración es un proceso complejo en el que influyen diferentes factores y variables que interactúan entre sí. La comprensión de la combinación de estos factores como las materias primas y los procesos físicos y bioquímicos a los que son sometidos y sus variables, ayudan a entender el origen de los diferentes tipos de cervezas y sus propiedades organolépticas. La levadura como responsable de la fermentación de la cerveza ha evolucionado a lo largo de su relación con el ser humano, siendo el género *Saccharomyces* el más utilizado dando lugar a su domesticación, no obstante, existen alternativas interesantes como las cepas de *Saccharomyces* Kveik y el género *Brettanomyces*.

RESUMO

A cervexa é unha das bebidas alcohólicas máis antigas e populares do mundo. A súa preparación é un proceso complexo influído por diferentes factores e variables que interactúan entre si. Comprender a combinación destes factores, como as materias primas e os procesos físicos e bioquímicos aos que están sometidos e as súas variables, axudan a comprender a orixe dos diferentes tipos de cervexas e as súas propiedades organolépticas. A levadura como responsable da fermentación da cervexa evolucionou ao longo da súa relación cos humanos, sendo o xénero *Saccharomyces* o máis utilizado, o que leva á súa domesticación, con todo, existen alternativas interesantes como as cepas de *Saccharomyces* Kveik e o xénero *Brettanomyces*.

ABSTRACT

Beer is one of the oldest and most popular alcoholic beverages in the world. Its preparation is a complex process influenced by different factors and variables that interact with each other. Understanding the combination of these factors, such as raw materials and the physical and biochemical processes to which they are subjected and their variables, help to understand the origin of different types of beers and their organoleptic properties. Yeast, as responsible for the fermentation of beer, has evolved throughout its relationship with humans, being the genus *Saccharomyces* the most used, leading to its domestication, however, there are interesting alternatives such as the strains of *Saccharomyces* Kveik and the genus *Brettanomyces*.

Palabras clave: Levadura, cerveza, fermentación, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces pastorianus*, *Brettanomyces ssp.*

ABREVIATURAS

DMS: Disulfuro de dimetilo.

FAN: Free amino nitrogen.

IPA: Indian Pale Ale.

VDK: Diacetona vecinal

1 Introducción

La cerveza es una de las bebidas alcohólicas más populares y antiguas de la cultura humana y se puede encontrar en prácticamente todos los países del mundo, como se puede observar en la *Figura 1*. Por eso su definición, puede variar de un lugar a otro, pero siempre coincide en que es el resultado de la fermentación, por medio de la acción metabólica de las levaduras, de una mezcla de malta, agua y lúpulo (Verdú, 2016).



Figura 1. Mapa que muestra las cervezas más populares de cada país (Malin, 2015)

La cerveza esconde una complejidad y una historia que merecen ser entendidas, especialmente para todos aquellos amantes de este brebaje tan importante en nuestra cultura como seres humanos.

La cerveza es considerada una de las bebidas alcohólicas más antiguas del mundo (Díaz, 2013). La primera evidencia científica con la que se cuenta es de hace 13.000 años, durante la etapa final del paleolítico. En esta época los seres humanos todavía eran cazadores y recolectores, y ya se tienen evidencias de que fermentaban los cereales para obtener una cerveza primitiva (Aouizerat et al., 2019). No obstante, se sospecha que la elaboración de cerveza se remonta incluso anterior a esta fecha. (Mychael Eßlinger, 2009).

Otras evidencias y referencias históricas demuestran que la cerveza ha sido un elemento muy importante a lo largo de la historia del ser humano. Por ejemplo, cabe destacar su mención en

El Himno de Ninkasi que data del año 1800 a. C., y que contiene la receta escrita más antigua que se conoce para la elaboración de cerveza (Faria-Oliveira et al., 2013).

Llega un momento en el que la cerveza es tan popular y tiene tal importancia en la vida de las personas, que se llegaron a imponer leyes para regular su elaboración y venta. Se cuentan con evidencias como el código de Hammurabi de la época de los Sumerios, una piedra creada en 1760 a. C por el rey de Babilonia, donde se recogen decretos y leyes para la correcta elaboración y manipulación de la cerveza, castigando a aquellas personas que vendieran cerveza adulterada o en mal estado (Hornsey, 2003). Así mismo, en 1516, se publica la Ley de la pureza de Guillermo IV de Baviera, en la que se establece que la cerveza solo podía ser elaborada a partir de agua (preferentemente de manantial), cebada malteada y lúpulo (Meier-Dörnberg et al., 2017).

Cabe destacar, que en ninguna de estas referencias históricas se menciona a la levadura como parte fundamental para la elaboración de la cerveza. Simplemente porque no se conocía su existencia. No fue hasta 1860 cuando Louis Pasteur estableció a la levadura como responsable de la fermentación, y describió los procesos bioquímicos que esta llevaba a cabo, además de describir las diferencias entre el metabolismo aeróbico y anaeróbico de la levadura (Mychael Eßlinger, 2009) (Hornsey, 2003).

Hoy en día, se estima que existen aproximadamente 150.000 tipos diferentes de cerveza en todo el mundo. Y aunque las cervezas pueden ser similares entre sí, a la vez son completamente únicas. Todas se desarrollan a partir de 4 ingredientes básicos, cuyo tipo, concentración, combinación y factores a los que son sometidos darán lugar a infinitas posibilidades. (Stewart, 2018).

La *Figura 2*, plasma esquemáticamente algunos de los tipos de cervezas más importantes que existen. Se puede observar que se resalta el tipo Ale y Lager, de los que surgen el resto de los tipos.

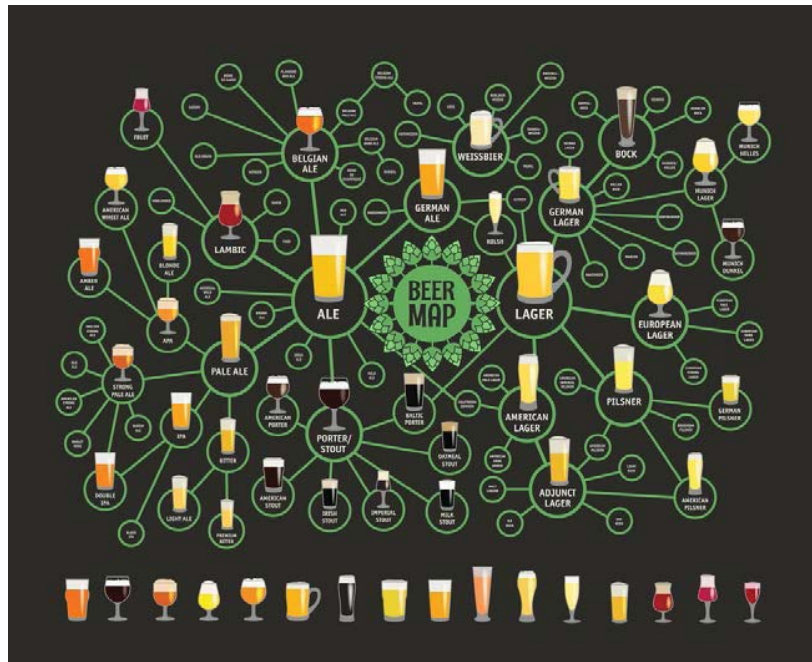


Figura 2. Tipos de cervezas (Beer, 2018)

2 Objetivos

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica de tipo divulgativo sobre la elaboración de la cerveza a fin de:

- Explicar los componentes de la cerveza y las etapas de los procesos mecánicos por los que pasan.
- Dar a conocer que tipos de levaduras están implicadas en la elaboración de cerveza, su origen y alternativas.
- Explicar en que consisten los procesos bioquímicos que se llevan a cabo en la fermentación.

3 Materiales y métodos

Para la realización de esta revisión bibliográfica se llevó a cabo una búsqueda tanto de artículos de revisión como de investigación científica en las bases de datos como PubMed y ScienceDirect, así como libros.

Para citar los artículos y realizar la bibliografía se ha usado el gestor bibliográfico Mendeley.

4 Resultados

4.1 Ingredientes de la cerveza y sus componentes

4.1.1 El agua

El agua es, en términos de cantidad, la materia prima más importante. Siendo el 95% del peso de la cerveza (Hough, 2002). Por lo que, la composición química del agua tiene una relevancia significativa en su elaboración (Hornsey, 2003).

La dureza del agua, es decir, la presencia y concentración de los minerales que se encuentran en el agua, afectaran al carácter y a la percepción de los sabores de la malta, el lúpulo y subproductos de la fermentación. También afecta al comportamiento de la levadura, y en consecuencia, influye en el sabor, el aroma, y la sensación de la cerveza en la boca (Stewart, 2018) (Mychael Eßlinger, 2009).

El agua se compone de diferentes minerales como el calcio, sodio, magnesio, cloro, sulfatos y carbonatos. Por ello, una de las primeras cosas que se tienen en cuenta, es conocer las características del agua disponible para poder predecir que tipo de cerveza se va a elaborar (Palmer & Kaminski, 2013).

Desde un punto de vista bioquímico, el calcio, favorece la actividad de enzimas como la α -amilasa, β -amilasa y proteasas que actúan durante la germinación en el malteado. Por otro lado, beneficia la precipitación y degradación de proteínas, fomentando la proteólisis, durante la maceración y la ebullición (Palmer & Kaminski, 2013). Además de reducir el nivel proteico del mosto, aumenta la concentración de FAN, que se define como la concentración de aminoácidos y pequeños péptidos que pueden ser utilizados por la cerveza para su crecimiento celular y proliferación (Hill & Stewart, 2019).

El Magnesio y Zinc, son elementos presentes en el agua que son esenciales en la elaboración de la cerveza. Son necesarios para lograr un comportamiento óptimo de la levadura, actuando como cofactor, para la producción de ciertas enzimas necesarias para el proceso de fermentación (Palmer & Kaminski, 2013).

El azufre de los sulfatos es también es esencial durante la fermentación, ya que la levadura necesita fabricar dos aminoácidos que contienen azufre, la cisteína y la metionina. Algunas cepas de levadura utilizan el azufre de los iones sulfato con este propósito y luego excretan

cualquier exceso en forma de iones sulfito. No solo son importantes para el metabolismo de la levadura, si no también ayudan a fijar el amargor, por lo que las cervezas con mucho lúpulo, necesitan aguas con una alta concentración en sulfatos (Palmer & Kaminski, 2013).

4.1.2 El lúpulo

El **lúpulo**, *Humulus lupulus*, es una planta que pertenece a la familia de las cannabáceas. Se empieza a incorporar en la cerveza entre los siglos XI al XIV, y es a partir de este momento que la cerveza empieza a parecerse a la que se consume hoy en día. Con anterioridad a la utilización del lúpulo, se utilizaba el Gruit, una mezcla de diferentes plantas que atribuían el mismo efecto sobre la cerveza que el lúpulo. (Mychael Eßlinger, 2009).

El lúpulo, es una planta dioica de la que solo se utilizan las flores cónicas de las plantas femeninas. Es en las flores donde se encuentran las glándulas de lupulina, como se observa en la *Figura 3*, y que contienen entre un 10-20% de resinas que confieren el amargor y estabilidad a la cerveza, y entre un 0,2-0,8 de aceites esenciales (volátiles y terpenos) que transfieren aromas y polifenoles taninos, que contribuye a la clarificación de la cerveza y formación de la espuma (Guerberoff et al., 2020).

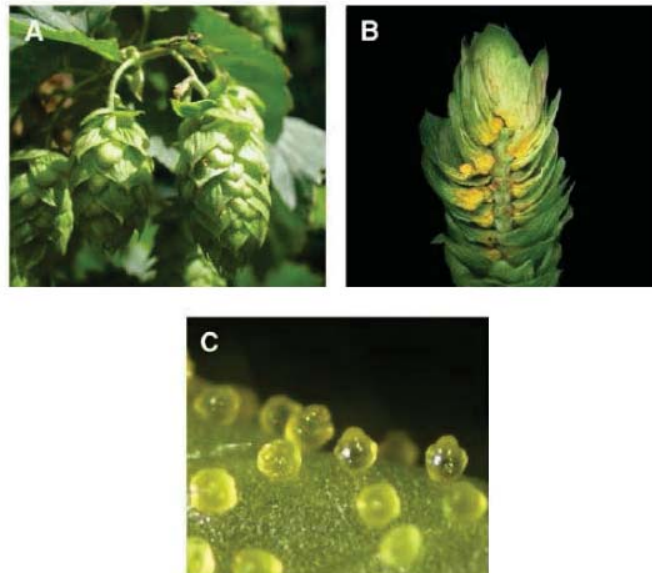


Figura 3. Flores de lúpulo. A. Morfología de los conos del lúpulo. B. Corte transversal de un cono. C. Glándulas de lupulina. (París-Huguet, 2019)

Las resinas contenidas en las glándulas de lupulina del lúpulo contienen α - ácidos y β -ácidos. Los α - ácidos pueden ser de 3 tipos: la humulona, cohumulona y adhumulona. Cuando el

mosto es hervido junto con el lúpulo, se isomerizan y se transforman en iso- α -ácidos: iso-humulona, iso-cohumulona e iso-adhumulona, que son parcialmente solubles y se percibe como el amargor típico de la cerveza. Los β -ácidos: la fupulona, colupulona y adlupulona, también se isomerizan en sus variantes -iso aunque son mucho menos amargos que los α -ácidos (De Keukeleirc, 2000).

El lúpulo es incorporado a la mezcla debido a los beneficios que le aporta. Estos son el amargor que compensan el dulzor de la malta y propiedades antimicrobianas que ayudan a conservar la cerveza contra las bacterias Gram positivas. Este efecto antimicrobiano fue la razón de la elaboración de la cerveza tipo IPA. Una cerveza exportada en barco desde Inglaterra a las colonias inglesas de la India. Como el viaje barco era largo, tendía a estropearse. Por ello se empezó a utilizar más cantidad de lúpulo, lo que terminó consolidando este estilo de cerveza hoy en día tan popular (Hieronymus, 2012).

Escoger el tipo de lúpulo, o tipos para combinar, y el momento preciso en el que es incorporado durante el proceso de elaboración, es una variable que también afecta al resultado final. Incluso, cuando variedades de lúpulo idénticas crecen en diferentes zonas del mundo, también resultan diferentes, creando cervezas únicas con características regionales (Stewart, 2018).

4.1.3 La malta

La malta, es el resultado del proceso de malteado de un cereal. Puede ser cualquier cereal como el trigo, arroz o el más comúnmente utilizado, la cebada (Mallett, 2014).

El malteado se define como la germinación controlada de un cereal con el objetivo de exponer y hacer más accesible los azúcares que contiene el almidón del grano para las levaduras durante la fermentación (De Keukeleirc, 2000).

Estos azúcares se encuentran en el endospermo del cereal en forma de granos de almidón protegidos por paredes celulares, que actúa como reserva energética para utilizar en el proceso de germinación de la semilla. (Mallett, 2014).

Para poder acceder a estos azúcares, se hidratan los granos a una temperatura determinada para activar la germinación. Aquí entran en juego diferentes enzimas, como las glucanasas, proteasas, fosfatasas y las α y β -amilasas. Las enzimas actúan modificando la estructura del grano preparándolo para su germinación deshaciendo las paredes vegetales para liberar el almidón y convirtiendo el almidón en azúcares fermentables. Este proceso lleva varios días y

antes de que estos azúcares sean utilizados por la planta, la germinación es detenida mediante un proceso de secado del grano (Mallett, 2014).

El proceso de secado o tostado puede tener diferentes intensidades, lo cual también afectará al color y sabor de la cerveza obteniendo diferentes variedades de maltas (Hough, 2002). Cuanto más tostado estén los granos menos azúcares estarán disponibles para producir alcohol. Por eso es habitual mezclar maltas más tostadas (aportan más color y sabor) con maltas menos tostadas (mayor producción de alcohol y cuerpo) (Guerberoff et al., 2020).

Algunas cerveceras mezclan cebada malteada con cebada no malteada para ahorrar costes, ya que la cebada sin maltear es más económica. Si la proporción de cebada no malteada es menor al 30%, los enzimas de la malta pueden ser suficientes para degradar las paredes celulares y dejar así expuestos los azúcares. Si es mayor al 30% es frecuente suplementar con enzimas industriales como las α y β -amilasas (Hough, 2002).

Otra estrategia de las cerveceras industriales es mezclar cereales más económicos como maíz y arroz junto con la cebada, mientras que las cervezas artesanas llevan exclusivamente cebada (Hough, 2002).

4.1.4 Las levaduras

La levadura es un microorganismo eucariota, unicelular, del reino de los hongos, capaz de crecer en presencia y ausencia de oxígeno, encargado de llevar a cabo la fermentación en la elaboración de cerveza (White & Zainasheff, 2010). Puede medir entre 5-10 μm de diámetro y puede presentar diferentes formas características, normalmente esférica, ovalada o cilíndrica. (Speers & Forbes, 2015).

Se conocen más de 500 especies de levaduras, y en cada especie miles de cepas, y se pueden encontrar levaduras en cualquier parte del mundo (White & Zainasheff, 2010). A pesar de esto, son básicamente dos cepas del género *Saccharomyces* las que se usan industrialmente en la elaboración de cerveza.

Por un lado, la bien conocida *Saccharomyces cerevisiae* (en griego *Saccharo* significa azúcar y *myces* significa hongo, en latín *cerevisiae* significa cerveza). Por otro lado, la *Saccharomyces pastorianus*, que debe su nombre a Pasteur, o también denominada *Saccharomyces carlsbergensis*, ya que fue aislada por primera vez en los laboratorios de Carlsberg (Hill, 2015)(Speers & Forbes, 2015).

A lo largo de su relación con el ser humano, la levadura perdería su contacto con sus nichos ecológicos naturales, al ser cultivada en ambientes artificiales, proporcionando el escenario perfecto para su domesticación. Se entiende por domesticación, la selección humana y cultivo de especies silvestres para obtener variantes que prosperan en ambientes artificiales, normalmente aportando algún beneficio para el humano. Son signos típicos de domesticación la poliploidía, divergencia genotípica y fenotípicamente de sus ancestros salvajes (White & Zainasheff, 2010).

La reutilización sucesiva de los restos de levadura de aquellas tandas de cerveza que habían resultado exitosas ocasionó una presión selectiva sobre las levaduras (Gallone et al., 2016).

Las diferencias adquiridas por esta presión selectiva fueron varias. En cuanto a su ciclo de vida, las levaduras domesticas perdieron la capacidad de formar esporas. De esta manera, las levaduras domesticas, pierden la capacidad de reproducción sexual, y consecuentemente, de obtener cambios evolutivos positivos para la diversidad y buena salud de las levaduras resultando en una característica positiva, ya que lo que se buscaba era la consistencia y estabilidad de la levadura (Liti, 2015).

Las levaduras domesticas aumentan en número por gemación, es decir son copias de si mismas y pueden llegar a clonarse un par de veces en el mismo ciclo fermentativo, y hasta 20-30 veces a lo largo de su vida en fermentaciones sucesivas (White & Zainasheff, 2010).

Además, a diferencia de las levaduras salvajes que son diploides, las levaduras domesticas son poliploides, reforzando esa estabilidad tan demandada, ya que una mutación en un gen no incapacita a la célula ya que posee más copias de dicho gen disponible (White & Zainasheff, 2010).

Otras características que las diferencia de las levaduras salvajes, es que son mucho más eficaces en fermentar los azúcares del mosto, producen sabores mucho más agradables, son altamente floculantes y poseen una gran tolerancia al etanol (Preiss et al., 2018).

A partir de que se descubriese la existencia de la levadura como responsable de la fermentación por Louis Pasteur en 1860, y la introducción del método de aislamiento y cultivo de cepas puras por Emil C. Hansen (Laboratorios Carlsberg en Dinamarca a finales del siglo XIX), permitió obtener fermentaciones todavía más estables, lo que resultó en una calidad más consistente (White & Zainasheff, 2010). Esto junto con las técnicas de esterilización y la introducción de los refrigeradores permitieron la industrialización de la cerveza en masa.

Finalmente, la introducción del filtrado final y las nuevas técnicas de embotellado mejoraron la estabilidad del producto a largo plazo y su exportación. La cerveza dejó de ser entonces un producto estacional y local, pudiéndose fabricar industrialmente, mantener fresco y almacenar durante más tiempo (Gorter De Vries et al., 2019).

TIPOS DE LEVADURAS

S. cerevisiae

La *S. cerevisiae* es la levadura más antiguamente conocida y tiene una larga historia en la elaboración de alimentos y bebidas fermentadas. Es considerada una levadura industrial en la fabricación de vino, pan y cerveza. En concreto, es la encargada de llevar a cabo la fermentación de las cervezas de tipo Ale o de fermentación alta, es decir, que sube a la superficie del fermentador junto con la espuma durante la fermentación. Esto es debido a que la estructura química de las capas exteriores de las célula son muy hidrófobas (Hough, 2002).

Posee una temperatura óptima de crecimiento de entre 24-28°C y se caracteriza por una fermentación muy rápida (Hill, 2015). Otras características diferenciales son que además no posee capacidad de fermentar melibiosa (Speers & Forbes, 2015) y es de menor capacidad floculante en comparación con la Lager. (Stewart, 2018)

Bajo el microscopio óptico, es fácil de reconocer, tiene forma redonda e isomórfica y es más grande que la salvaje (White & Zainasheff, 2010).

S. pastorianus

Esta levadura es la encargada de llevar a cabo cervezas tipo Lager o de fermentación baja, es decir, que fermenta en el fondo del fermentador. En contraste con la *S. cerevisiae* es relativamente reciente. Emergió durante el siglo XVI en Bavaria bajo otro tipo de presión selectiva. Esta vez, bajo la influencia de la aplicación de nuevas regulaciones de estandarización de la elaboración de cerveza y mejora de su calidad. Se cree, que surgió tras la restricción de elaborar cerveza solo durante los meses de invierno cuando las temperaturas eran más bajas y almacenada para su consumo en verano. De aquí proviene su nombre, Lager, que significa almacenar en alemán. (Gorter De Vries et al., 2019)

La secuenciación del genoma de las levaduras *S. eubayanus* y *S. cerevisiae* han demostrado que *S. pastorianus* procede de una hibridación natural entre ambos. Por un lado, heredando

de la *S. cerevisiae* la capacidad tan eficiente de fermentación, y de *S. eubayanus* la resistencia al frío. Este es un ejemplo de la capacidad natural de la levadura a adaptarse a condiciones inestables mediante la hibridación, que no solo le confiere ventajas evolutivas si no que da la oportunidad de ser manipuladas para crear cepas nuevas sin recurrir a la modificación genética. (Hill, 2015).

S. pastorianus posee una temperatura óptima de crecimiento más baja que la *S. cerevisiae*, que es de entre 14-16°C. Lleva a cabo procesos de fermentación más largos y lentos dejando un sabor característico más limpio y fresco (Hill, 2015). A diferencia de *S. cerevisiae* posee la capacidad de fermentar el disacárido melibiosa debido a que poseen actividad α -D-galactosidasa (Speers & Forbes, 2015) y posee una capacidad floculante mayor (Stewart, 2018).

Levaduras Kveik

El interés por la cerveza artesana esta poniendo en uso otras cepas de *Saccharomyces*. Las levaduras denominadas *Kveik*, son cepas de la levadura *S. cerevisiae* que poseen propiedades particulares fruto del proceso de domesticación en granjas y casas de campo en los fiordos noruegos en las que eran utilizadas tanto para la fermentación del pan como la elaboración de cerveza (Preiss et al., 2018).

Brettanomyces spp:

Son levaduras consideradas salvajes y tienen la mala fama de ser un potente contaminante difícil de eliminar en las fábricas de cerveza (Steensels et al., 2015).

Se caracterizan por la producción de sabores volátiles fenólicos, acéticos que pueden llegar a ser sabores más bien considerados como desagradables. A pesar de esto, ha demostrado aportar otras cualidades organolépticas favorables (Speers & Forbes, 2015). Hoy en día, se utiliza en la elaboración de cerveza tipo Lambic o también denominada de fermentación espontánea. Al ser una fermentación inoculada por las levaduras del aire, viene en conjunto con otros microorganismos implicados como bacterias que también dejan sus sabores característicos, que cada vez son más valorados como en las cervezas de tipo Sour (Holt et al., 2018).

Bajo observación al microscopio óptico, son más pequeñas que las *Saccharomyces* y tiene una forma ovalada, lo que las permite ser fácilmente reconocibles y diferenciar de las *Saccharomyces domesticas* (White & Zainasheff, 2010).

En la *Tabla 1* se pueden observar las diferencias más destacables entre las levaduras *Brettanomyces*, *S. cerevisiae* y *S. pastorianus*.

Tabla 1. Propiedades más destacables de Brettanomyces (Lambic), S. cerevisiae (Ale) y S. pastorianus (Lager) (Serra Colomer et al., 2019).

		<i>Brettanomyces</i>	<i>S. pastorianus</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Consumption	Glucose	✓	✓	✓
	Maltose	✓	✓	✓
	Maltotriose	✓	✓	✓
	Dextrins	✓	✗	✗
	Cellobiose	✓	✗	✗ ₁
	Nitrate	✓	✗	✗
Production	Ethanol	✓	✓	✓
	Glycerol	✗ ₂	✓	✓
	Acetic acid	✓	✗ ₃	✗ ₃
	Phenolic Off-Flavor	✓	✗	✓
Fermentation	Crabtree	✓	✓	✓
	Custers	✓	✗	✗
	Optimal Brewing Temperature (°C)	21-25	14-16	24-28
	Attenuation	High	Normal	Normal
	Flocculation	Low	Low-High	Low-High

4.2 Elaboración de la cerveza

4.2.1 Procesos físicos

Tras el malteado y tostado de la cebada, explicado anteriormente en el apartado 4.1.3 se llevan a cabo los siguientes procesos físicos que se pueden observar en su conjunto en la *Figura 4*.

Molienda

Consiste en moler la malta para romper los granos y obtener una harina muy basta, de manera que su contenido queda expuesto para que entre en contacto con el agua. Esto se hace mediante un molino (Díaz, 2013).

Maceración y cocción

El macerado es el proceso por el cuál se mezclan la malta molida con agua caliente y se deja a remojo llevándose a cabo la sacarificación. Seguidamente se filtra para descartar el bagazo (Díaz, 2013).

A continuación, se lleva a ebullición para su esterilización. Lo cual, además, detiene la acción enzimática y ayuda a coagular algunas proteínas y taninos que dan claridad a la cerveza. Es este momento el que se añade el lúpulo y se vuelve a filtrar (Díaz, 2013).

Fermentación

Una vez enfriado y aireado el mosto, se transfiere a un fermentador donde se inocula la levadura y comienzan los procesos bioquímicos de la fermentación (Díaz, 2013).

Maduración o segunda fermentación

Tiempo de reposo de la cerveza, en la que la fermentación continúa. Puede llevarse a cabo en un fermentador, en barriles, en botella o latas. El tipo y tiempo varia en función del tipo de cerveza (Stewart, 2018).

Embotellado y carbonatación

La carbonatación puede ser de dos tipos: Natural o artificial. Si la carbonatación es natural, a la cerveza ya fermentada sin azúcares, se lleva a una segunda fermentación en botella añadiendo nuevos azúcares, que al ponerle la chapa retendrá todo el CO₂ natural. Si es artificial se añade CO₂. Las cervezas industriales pasan por un proceso de pasteurización y filtrado, cosa que las artesanas no siempre llevan a cabo (Stewart, 2018).

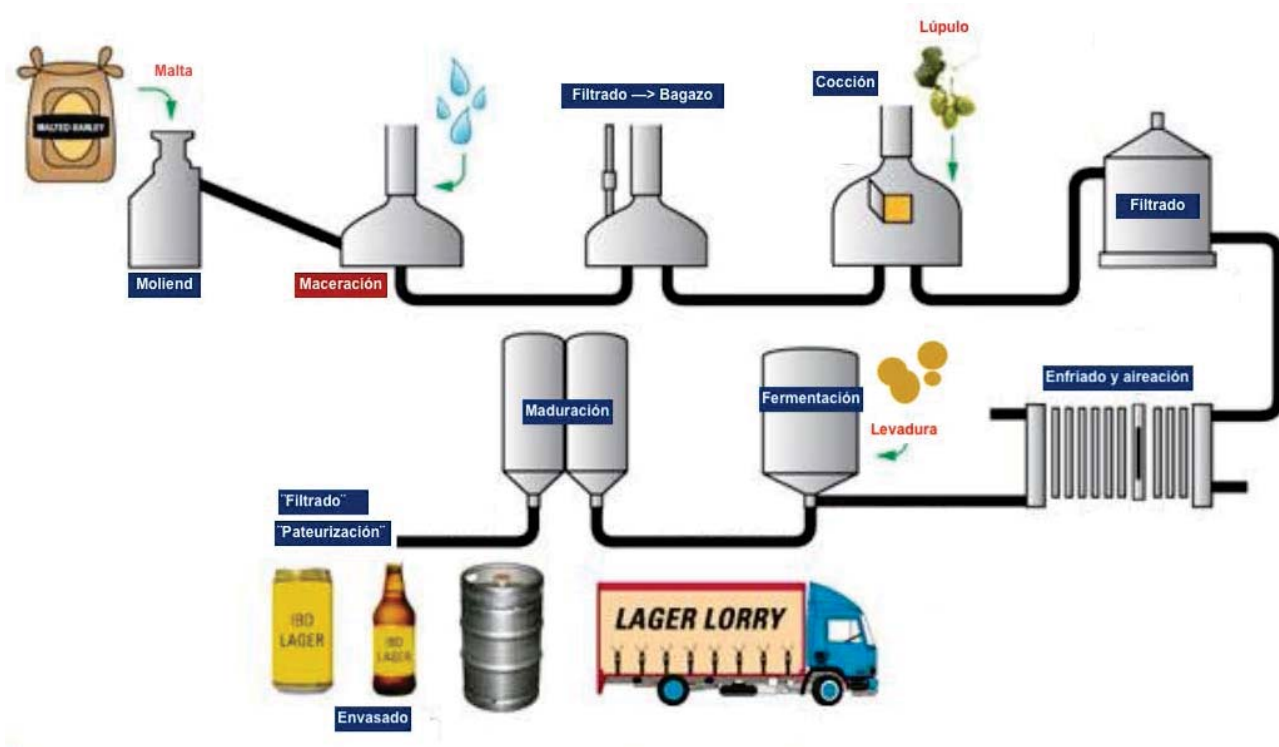


Figura 4. Procesos físicos en la elaboración de la cerveza. Adaptado de (Díaz, 2013).

4.2.2 Procesos bioquímicos

Macerado y cocción

Una vez malteada y molida la cebada, se lleva a cabo el proceso de macerado a partir del cuál se extraen los azúcares. Al poner a remojo la malta, los granos, se rompen por la molienda y se hinchan. Las enzimas de la germinación se reactivan, menos en aquellos granos muy quemados donde la actividad enzimática se ha perdido. A partir de este momento las proteínas y el almidón empiezan a ser degradados por las enzimas para producir el extracto de malta o mosto dulce (Stewart, 2018).

El almidón contiene un 25% de amilosas y un 75% de amilopectina, sobre las que van a actuar las enzimas α y β -amilasas que se activaron durante la germinación, para convertirlas en azúcares más simples, y por lo tanto, más fácilmente asimilables por las levaduras. Cada una tiene un efecto diferente sobre el almidón. Como se puede observar en la *Figura 5*, las α -amilasas corta las uniones de glucosa al azar generando glucosas y maltriosas, por otro lado, la β -amilasa empieza a cortar por lo extremos liberando uniones de dos glucosas denominadas

maltosas. Ninguna de las dos corta las ramificaciones dextrina límite, las cuales, no son asimilables por la levadura. Estos oligosacáridos que quedan sin fermentar van a influir en el cuerpo de la cerveza aportándole densidad al mosto siendo una variable constante. (Hough, 2002).

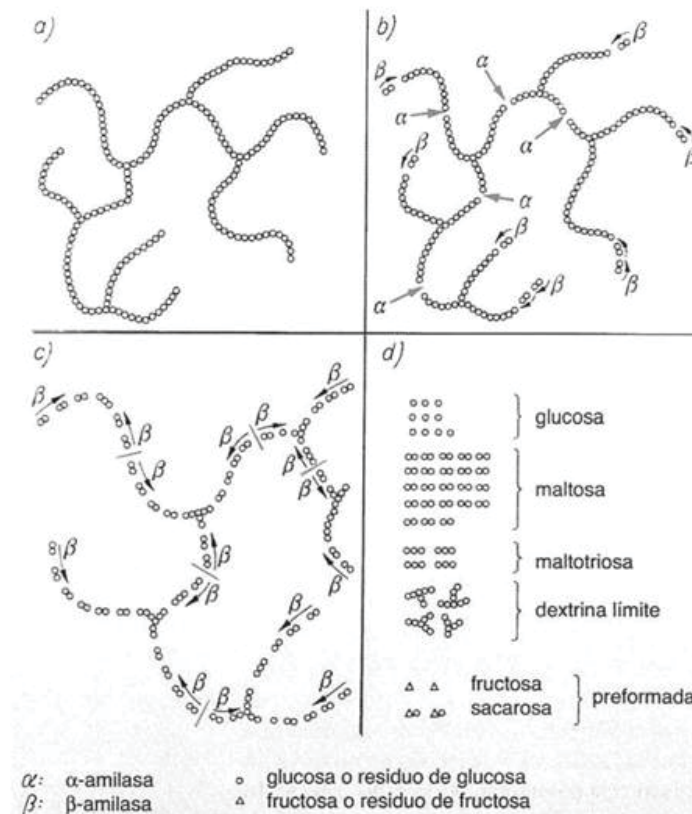


Figura 5. Procesos de hidrólisis del almidón: a) Estructura de almidón. b) Acción de la α - amilasa. c) Acción de la β - amilasa. d) Azúcares resultantes (Hough, 2002).

El proceso de maceración está regulado por temperatura. Es decir, ya que cada enzima, la α y β -amilasas tienen temperaturas de actividad óptimas diferentes, se aplica una temperatura intermedia que permite la acción de ambas, aunque no en su forma óptima si no que se busca un equilibrio. Por ejemplo, si se deseara una cerveza con mucho cuerpo se fomentaría la acción de la α -amilasas aumentando la temperatura, y se disminuiría la temperatura si se decide por una cerveza con poco cuerpo, es decir con más azúcares fácilmente fermentables por la levadura dejando pocos azúcares sin fermentar (Hough, 2002).

Al final de la maceración, se filtra el mosto y se da paso a la cocción y la adición del lúpulo, que se vuelve a filtrar (Stewart, 2018).

En este momento, el mosto aromatizado con lúpulo es un medio ácido complejo que consiste en azúcares simples fermentables (glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa y maltotriosa), dextrinas no fermentables, aminoácidos, péptidos, iones, ácidos nucleicos, vitaminas y sales minerales. Con excepción del oxígeno, la malta satisface las necesidades de la levadura (Stewart, 2018).

A continuación, se deja enfriar y se oxigena el mosto para dar paso a la inoculación de la levadura y la fermentación. Este es un paso importante, ya que si se añadiesen las levaduras antes de el enfriamiento o en un medio sin oxígeno, no se llevaría a cabo una correcta fermentación, ya que morirían o no podrían crecer correctamente (Stewart, 2018).

Fermentación

Las levaduras pueden realizar los dos tipos opuestos de metabolismos: respiración o fermentación alcohólica, dependiendo de si hay o no presencia de oxígeno en el medio (Hough, 2002)

Una vez inoculada la levadura, esta pasa por un periodo de adaptación metabólico al medio, en la que usan sus reservas de glucógeno y el oxígeno del medio para crecer eficientemente, reproducirse y generar nuevas células, preparando sus membranas para una óptima permeabilidad y transferencia de nutrientes y azúcares. La presencia de oxígeno en esta etapa es esencial ya que la levadura lo requiere para sintetizar esteroides y ácidos grasos insaturados para las paredes celulares de las nuevas células hijas (Hough, 2002).

Tanto la respiración como la fermentación alcohólica forman parte del catabolismo y tienen la función de degradar productos o moléculas complejas en otras más sencillas para la obtención de energía. Como se observa en la *Figura 6*, ambos procesos comparten el primer paso, la glicolisis, que es el paso de una glucosa a 2 moléculas de ácido pirúvico. Pero a partir de este paso, en la respiración, el piruvato entraría en el ciclo de Krebs en la membrana mitocondrial y a continuación por la cadena de transporte electrónico en las crestas mitocondriales obteniendo 36 moléculas de ATP, siendo mucho más eficaz que la fermentación. En el caso de la fermentación, todo el proceso ocurre en el citosol de la célula, y donde el ácido pirúvico pasa a etanol y CO₂ generando solamente 2 moléculas de ATP (Hough, 2002).

En el interior de la célula, la maltosa y maltotriosa son hidrolizadas enzimáticamente a glucosa (Mychael Eßlinger, 2009).

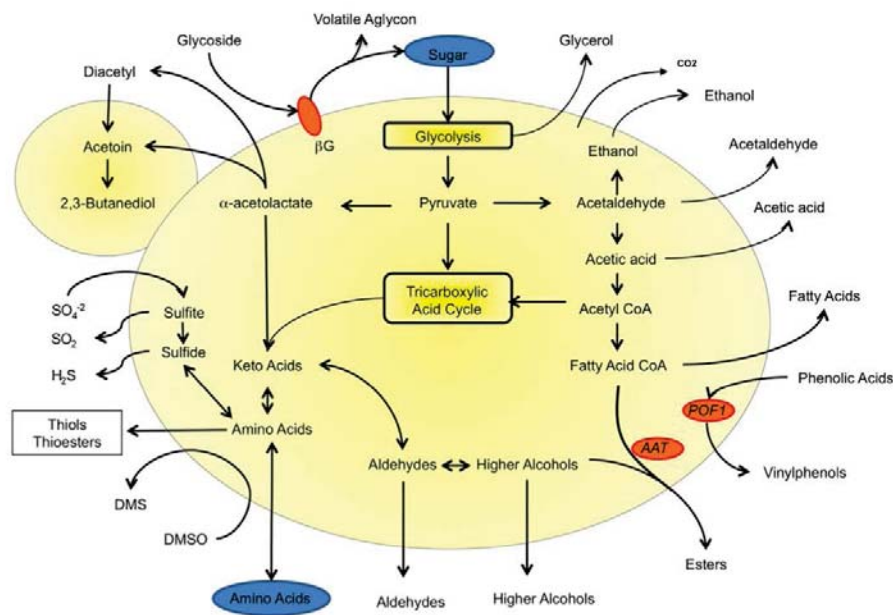


Figura 6. Esquema de las actividades metabólicas de *S. cerevisiae* (Bokulich & Bamforth, 2013)

La ecuación general que describe la conversión de un azúcar a etanol es la siguiente:



La primera parte, (igual que en la respiración) es la ruptura de una molécula de glucosa en dos de piruvato:



En la que obtenemos síntesis de ATP por fosforilación a nivel de sustrato y la ganancia de un poder reductor (NADH).

A partir de aquí es totalmente diferente a la respiración. En la segunda parte, 2 moléculas de piruvato son descarboxiladas por la piruvato descarboxilasa para formar 2 moléculas de acetaldehído y CO₂. A continuación, estas últimas, son reducidas a 2 moléculas de etanol por la alcohol deshidrogenasa con la oxidación de 2 NADH para dar 2 de NAD⁺. Y al contrario que en la respiración el aceptor final de electrones es una molécula orgánica (Hough, 2002).



La fermentación en realidad tiene la función de pasar el poder reductor a su forma oxidada (NAD^+), para evitar que se colapsen las sucesivas glucolisis, para poder seguir obteniendo el ATP y poder sobrevivir (Stewart, 2018).

A pesar de que este tipo de metabolismo no es tan eficiente, permite a las levaduras a sobrevivir en un ambiente sin oxígeno (Stewart, 2018).

La levadura utiliza los azúcares por un orden específico de preferencia, utilizando los azúcares más simples primero: glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa y maltotriosa. La levadura es capaz de transportar glucosa a través de la difusión facilitada sin gasto metabólico, lo cual inhibiría la capacidad de la célula de ingerir maltosa o maltotriosa. Pero el mosto es sobre todo rico en maltosas, con cantidades limitadas de glucosa y maltotriosa como se muestra en la *Figura 7*. (White & Zainasheff, 2010).

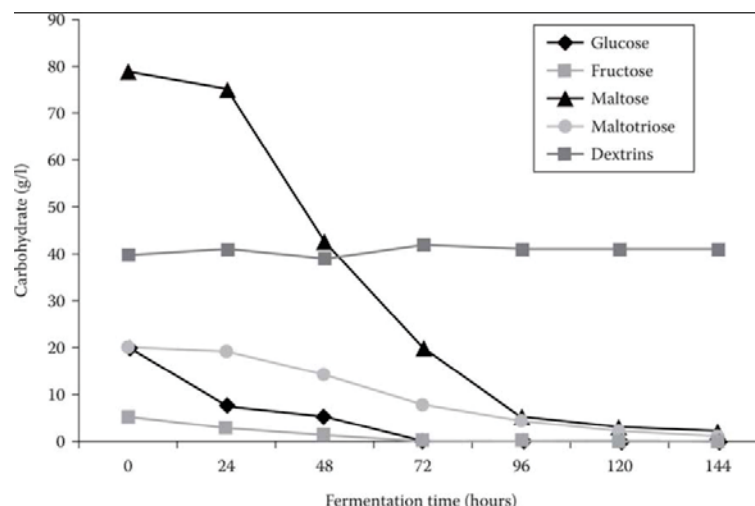


Figura 7. Orden de preferencia de fermentación de los azúcares de S. cerevisiae (White & Zainasheff, 2010)

La capacidad de utilizar diferentes azúcares, sus proporciones relativas y nutrientes presentes en el mosto determinan en gran parte el metabolismo de la levadura, que a su vez determina la velocidad de fermentación y el grado de atenuación.

Una vez consumidos los azúcares, la levadura tiende a flocular y a sedimentar en el fondo o superficie del fermentador, dejando limpia la cerveza (White & Zainasheff, 2010).

Propiedades organolépticas y análisis sensorial:

Durante la fermentación, la levadura excreta otras moléculas como subproductos de la fermentación a parte del etanol y el CO_2 , que afectan al sabor de la cerveza ya sea positiva o

negativamente, estos compuestos definen las propiedades organolépticas de la cerveza (París-Huguet, 2019).

Algunos de estos subproductos pueden observarse en la *Figura 6* y son:

Los ésteres, que se han llegado incluso a describir 600 tipos en la cerveza (Stewart, 2018). Son muy volátiles y responsables del aroma afrutado (París-Huguet, 2019). Los más habituales son el acetato de isoamilo con sabor a plátano, el hexanoato de etilo con sabor a manzana y el butanato de etilo con sabor a piña (Holt et al., 2018).

Los fenoles pueden pasar de sabores muy agradables a muy desagradables en la cerveza, todo depende de la cantidad, siendo más desagradable a mayor cantidad (Stewart, 2018). Son menos volátiles, por lo que permanecen en la cerveza durante más tiempo (París-Huguet, 2019). Sin embargo, existen sabores agradables como el ácido ferúlico, un fenol con olor a vainilla o clavo dependiendo de la concentración (Lodolo et al., 2008).

El acetaldehído recuerda al olor de la manzana verde, que, además, es un indicativo de que la cerveza aún no está finalizada y que necesita más tiempo de fermentación.

Las VDK o diacetilos dan sabores como a mantequilla o caramelo y son considerados como un defecto. Son típicamente sabores generados en cervezas que no han terminado de madurar (París-Huguet, 2019).

Los compuestos azufrados como el DMS, que presenta un olor a huevo podrido o verduras cocidas, es un sabor que en pequeñas dosis es aceptado, pero desagradable en exceso (París-Huguet, 2019).

Para que la cerveza gane todos estos sabores necesita varios días y hasta meses de maceración, cosa que las cerveceras industriales no hacen y utilizan químicos para enmascarar algunos sabores que no han tenido tiempo de ser metabolizados por la levadura, y por lo cuál, sale mucho más económico que esperar a que macere la cerveza o añadir más cantidad de lúpulo o malta. Las cervezas industriales se recomiendan beber en frío, para no notar algunos aromas que pueden ser desagradables. De aquí que las cervezas industriales sean tan baratas en comparación con las artesanas, sin embargo, la calidad lo merece (Hough, 2002).

Uno de los sistemas de evaluación más utilizados es el de la rueda de sabores de Meilgaard que se muestra en la *Figura 8*, que agrupa los principales sabores de la cerveza en 14 categorías (París-Huguet, 2019).



5 Conclusiones

De esta revisión bibliográfica divulgativa, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- La complejidad de la cerveza se atribuye a múltiples factores y variables que interactúan entre sí. Estos factores son la combinación de las materias primas y los procesos físicos y bioquímicos a los que son sometidos.
- La levadura es el microorganismo encargado de llevar a cabo los procesos bioquímicos en la elaboración de cerveza. En concreto el género *Saccharomyces* es el más utilizado industrialmente por sus propiedades altamente eficientes como microorganismo domesticado, sin embargo, existen otras levaduras, como otras cepas de *Saccharomyces* o levaduras salvajes como *Brettanomyces*, que están tomando relevancia en la elaboración de cervezas artesanas.
- Como resultado de los procesos bioquímicos de la levadura durante el proceso de fermentación, se obtienen subproductos de la fermentación que caracterizan a cada tipo de cerveza que son tomados en cuenta a la hora de fabricar una cerveza y forman parte las propiedades organolépticas.

6 Bibliografía

- Aouizerat, T., Gutman, I., Paz, Y., Maeir, A. M., Gadot, Y., Gelman, D., Szitenberg, A., Drori, E., Pinkus, A., Schoemann, M., Kaplan, R., Ben-Gedalya, T., Copenhagen-Glazer, S., Reich, E., Saragovi, A., Lipschits, O., Klutstein, M., & Hazana, R. (2019). Isolation and characterization of live yeast cells from ancient vessels as a tool in bio-archaeology. *mBio*, 10(2). <https://doi.org/10.1128/mBio.00388-19>
- Beer, C. (2018). *Tipos de cervezas*. <https://cervezaartesana.info/curiosidades/tipos-cerveza-artesanal/>
- Bokulich, N. A., & Bamforth, C. W. (2013). The Microbiology of Malting and Brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(2), 157-172. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00060-12>
- De Keukeleirc, D. (2000). Fundamentals of beer and hop chemistry. *Quimica Nova*, 23(1), 108-112. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422000000100019>
- Díaz, M. S. (2013). *UNIVERSIDAD DE OVIEDO «CERVEZA: COMPONENTES Y PROPIEDADES» MARÍA SUÁREZ DÍAZ*.
- Faria-Oliveira, F., Puga, S., & Ferreir, C. (2013). Yeast: World's Finest Chef. *Food Industry*. <https://doi.org/10.5772/53156>
- Gallone, B., Steensels, J., Prahl, T., Soriaga, L., Saels, V., Herrera-Malaver, B., Merlevede, A., Roncoroni, M., Voordeckers, K., Miraglia, L., Teiling, C., Steffy, B., Taylor, M., Schwartz, A., Richardson, T., White, C., Baele, G., Maere, S., & Verstrepen, K. J. (2016). Domestication and Divergence of *Saccharomyces cerevisiae* Beer Yeasts. *Cell*, 166(6), 1397-1410.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.020>
- Gorter De Vries, A. R., Pronk, J. T., & Daran, J. M. G. (2019). Lager-brewing yeasts in the era of modern genetics. *FEMS Yeast Research*, 19(7), 63. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foz063>
- Guerberoff, G. K., Marchesino, M. A., López, P. L., & Olmedo, R. H. (2020). El perfil sensorial de la cerveza como criterio de calidad y aceptación. *Nexo Agropecuario*, 8(1), 52-59. https://www.researchgate.net/profile/Gk_Guerberoff/publication/342693740_EL_PERFIL_SENSORIAL_DE_LA_CERVEZA_COMO_CRITERIO_DE_CALIDAD_Y_ACEPTACION/links/5f01047692851c52d619ab6d/EL-PERFIL-SENSORIAL-DE-LA-CERVEZA-COMO-CRITERIO-DE-CALIDAD-Y-ACEPTACION.pdf
- Hieronymus, S. (2012). For the love of hops : the practical guide to aroma, bitterness, and the culture of hops. En *Brewers Publications* (p. 344).
- Hill, A. E. (2015). Introduction to brewing microbiology. *Brewing Microbiology: Managing Microbes, Ensuring Quality and Valorising Waste*, xxvii-xxix. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-331-7.02001-3>
- Hill, A. E., & Stewart, G. G. (2019). Free amino nitrogen in brewing. *Fermentation*, 5(1). <https://doi.org/10.3390/fermentation5010022>
- Holt, S., Mukherjee, V., Lievens, B., Verstrepen, K. J., & Thevelein, J. M. (2018). Bioflavoring by non-conventional yeasts in sequential beer fermentations. *Food Microbiology*, 72, 55-66. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.11.008>
- Hornsey, I. S. 2003. (2003). *A history of beer and brewing*. The Royal Society of Chemistry.
- Hough, J. S. (2002). *Bioteología De La Cerveza Y De La Malta* (p. 208).
- Liti, G. (2015). The natural history of model organisms: The fascinating and secret wild life of the budding yeast *S. cerevisiae*. *eLife*, 2015(4). <https://doi.org/10.7554/eLife.05835.001>
- Lodolo, E. J., Kock, J. L. F., Axcell, B. C., & Brooks, M. (2008). The yeast *Saccharomyces cerevisiae* - The main character in beer brewing. *FEMS Yeast Research*, 8(7), 1018-1036.

<https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00433.x>

- Malin, J. (2015). *MAP: The Most Popular Beer In Every Country* | VinePair. <https://vinepair.com/wine-blog/most-popular-beer-every-country-map/>
- Mallett, J. (2014). Malt - A Practical Guide from Field to Brewhouse. En *Brewers Publications* (Vol. 53, Número 9).
- Meier-Dörnberg, T., Hutzler, M., Michel, M., Methner, F. J., & Jacob, F. (2017). The importance of a comparative characterization of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces pastorianus* strains for brewing. *Fermentation*, 3(3). <https://doi.org/10.3390/fermentation3030041>
- Mychael Eßlinger, H. (2009). *Handbook of Brewing: Processes, Technology and Markets*.
- Palmer, J., & Kaminski, C. (2013). Water: A Comprehensive Guide for Brewers. En *I* (Vol. 53, Número tecnología, p. 300).
- París-Huguet, M. P. (2019). *Estudio de los cambios inducidos en las propiedades organolépticas de la cerveza tras modificación genética de la levadura*. https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/23128/ParisHuguet_MariaPilar_TFM_2019.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Preiss, R., Tyrawa, C., Krogerus, K., Garshol, L. M., & Van Der Merwe, G. (2018). Traditional Norwegian Kveik are a genetically distinct group of domesticated *Saccharomyces cerevisiae* brewing yeasts. *Frontiers in Microbiology*, 9(SEP), 2137. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02137>
- Serra Colomer, M., Funch, B., & Forster, J. (2019). The raise of *Brettanomyces* yeast species for beer production. En *Current Opinion in Biotechnology* (Vol. 56, pp. 30-35). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.009>
- Speers, A., & Forbes, J. (2015). Yeast: An overview. En *Brewing Microbiology: Managing Microbes, Ensuring Quality and Valorising Waste*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-331-7.00001-0>
- Steensels, J., Daenen, L., Malcorps, P., Derdelinckx, G., Verachtert, H., & Verstrepen, K. J. (2015). *Brettanomyces* yeasts - From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 206, 24-38. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.005>
- Stewart, G. 3rd edition. (2018). *Handbook of Brewing[3rdEd]* Graham Stewart.
- Verdú, M. (2016). Diseño Del Proceso Industrial Para La Elaboración De Cerveza. *Universidad Politécnica de Valencia. Campus de Alcoy*, 78. [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/73275/Diseño y puesta en marcha de una planta elaboradora de cerveza.pdf?sequence=3](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/73275/Diseño_y_puesta_en_marcha_de_una_planta_elaboradora_de_cerveza.pdf?sequence=3)
- White, C., & Zainasheff, J. (2010). Yeast: The practical guide to beer fermentation. En P. D. William L. Pengelly (Ed.), *Igarss 2014* (2010.^a ed., Número 1). Kristi Switzer. https://books.google.no/books/about/Yeast.html?id=Q82QAwAAQBAJ&redir_esc=y